

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0146356

(43) 공개일자 2023년10월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 1/20 (2006.01) *A01N 63/20* (2020.01)
A23K 10/16 (2017.01) *A23L 33/135* (2016.01)
A61K 35/747 (2015.01) *A61P 3/04* (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01) *C12R 1/225* (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 1/205 (2021.05)
A01N 63/20 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2022-0045277

(22) 출원일자 2022년04월12일

심사청구일자 2022년04월12일

(71) 출원인

승실대학교산학협력단

서울특별시 동작구 상도로 369 (상도동)

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

김윤곤

서울특별시 은평구 진관3로 77, 927동 1001호(진관동, 은평뉴타운 구과발)

조성현

서울특별시 관악구 행운1마길 16, 702호(봉천동)

김재석

서울특별시 송파구 올림픽로4길 42, 3동 606호(잠실동, 우성아파트)

(74) 대리인

특허법인이룸리온

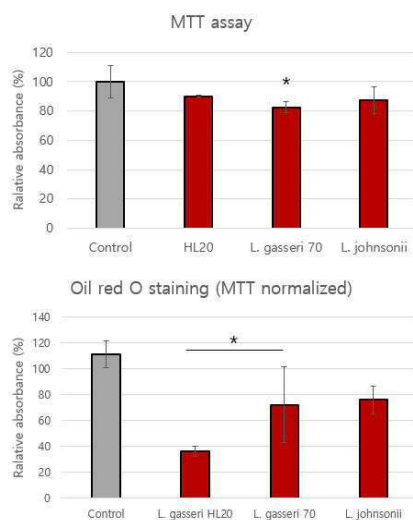
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 락토바실러스 가세리 HL20 균주 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 수탁번호 KCTC14907BP의 락토바실러스 가세리 HL20 균주에 관한 것으로서, 상기 균주는 다제내성균주에 대한 항균 활성을 가지며, 항비만 효과를 가지고 있어, 의약품 또는 식품 분야에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A23K 10/16 (2016.05)

A23L 33/135 (2016.08)

A61K 35/747 (2013.01)

A61P 3/04 (2018.01)

A61P 31/04 (2018.01)

C12R 2001/225 (2021.05)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711131916

과제번호 NRF-2017M3A9E4077232, NRF-2017M3A9E4077235

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 바이오·의료기술개발사업

연구과제명 다제내성 황색포도구균의 외부 신호전달 환경인자 관련 신개념 독성/내성 제어 기전 연구

기 여 율 1/1

과제수행기관명 숭실대학교 산학협력단

연구기간 2021.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

수탁번호 KCTC14907BP의 락토바실러스 가세리 HL20(*Lactobacillus gasseri* HL20) 균주.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 균주는 서열번호 1의 염기서열로 이루어진 16S rRNA을 포함하는 것인, 락토바실러스 가세리 HL20 균주.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 균주는 신생아의 분변에서 분리된 것인, 락토바실러스 가세리 HL20 균주

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 균주는 항균 활성을 가지는 것인, 락토바실러스 가세리 HL20 균주.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 균주는 다제내성균주에 대한 항균 활성을 가지는 것인, 락토바실러스 가세리 HL20 균주.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 다제내성균주는 메티실린 내성 황색포도상구균(MRSA), 메티실린 감수성 황색포도상구균(MSSA), 반코마이신 내성 황색포도상구균(VRSA), 반코마이신 중등도내성 황색포도상구균(VISA), 반코마이신 내성 장구균(VRE), 반코마이신 감수성 장구균(VSE), 다제내성 녹농균(MRPA), 카바페넴 내성 녹농균(CRPA), 카바페넴 내성 아시네토박터 바우마니균(CRAB) 및 카바페넴 내성 장내세균속균종(CRE)으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 락토바실러스 가세리 HL20 균주.

청구항 7

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항의 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물.

청구항 8

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항의 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 프로바이오틱스 제제.

청구항 9

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항의 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 항비만용 조성물.

청구항 10

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항의 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 다제내성균 감염 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 11

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항의 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 식품 첨가제 조성물.

청구항 12

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항의 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 사료 첨가제 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 락토바실러스 가세리 HL20 균주 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 최근 장내 미생물과 인간의 질병과의 연관성이 지속적으로 보고되고 있다. 그중에서 프로바이오틱스는 WHO의 정의에 따르면 적당량 섭취했을 때, 인간의 건강에 이점을 줄 수 있는 살아있는 미생물로서, 여러 연구들을 통해 프로바이오틱스의 항비만, 항병원균 등의 효능이 있을 수 있음이 보고되고 있다. 그러나, 이러한 효능을 보이는 프로바이오틱스는 균주(strain) 특이적인 특성을 보이기 때문에, 원하는 효능을 나타내는 프로바이오틱스를 개발하기 위해서 균주를 먼저 스크리닝하는 것이 필수적이다.

[0004] 본 발명에서는 신생아의 분변에서부터 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속 균주들을 분리 동정하였고, 그 중에서 락토바실러스 가세리 HL20 균주가 다제내성균주에 대한 항균 활성을 가지며, 항비만 효과가 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2021-0108207호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명의 목적은 수탁번호 KCTC14907BP의 락토바실러스 가세리 HL20(*Lactobacillus gasseri* HL20) 균주를 제공하는 것이다.
- [0008] 본 발명의 다른 목적은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 프로바이오틱스 제제를 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 항비만용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 다제내성균 감염 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 식품 첨가제 조성물을 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 사료 첨가제 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 수탁번호 KCTC14907BP의 락토바실러스 가세리 HL20(*Lactobacillus gasseri* HL20) 균주를 제공한다.
- [0016] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.
- [0017] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 프로바이오틱스 제제를 제공한다.
- [0018] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 항비만용 조성물을 제공한다.
- [0019] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 다제내성균 감염 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0020] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 식품 첨가제 조성물을 제공한다.
- [0021] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 사료 첨가제 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0023] 본 발명에 따른 균주는 다제내성균주에 대한 항균 활성을 가질 뿐만 아니라 항비만 효과를 가지고 있어, 항균 용도, 프로바이오틱스 제제, 항비만 용도 등 의약품 또는 식품 관련 분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0025] 도 1은 신생아의 분변에서 분리 동정된 새로운 균주에 대한 16S rRNA 서열분석을 나타낸 결과이다.

도 2는 여러 락토바실러스(*Lactobacillus*) 균주들의 메티실린 내성 황색포도상구균(*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, MRSA) WKZ-2 균주(a) 및 LAC 균주(b)에 대한 저해능을 확인한 결과이다.

도 3은 락토바실러스 가세리 HL20 및 락토바실러스 가세리 70의 WKZ-2 균주에 대한 저해능을 확인한 결과이다.

도 4는 락토바실러스 가세리 HL20의 항비만 효과를 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0027] 본 발명은 수탁번호 KCTC14907BP의 락토바실러스 가세리 HL20(*Lactobacillus gasseri* HL20) 균주를 제공한다.

[0028] 상기 균주는 서열번호 1의 염기서열로 이루어진 16S rRNA(Accession No. NR_041920.1)을 포함하는 것일 수 있다.

[0029] 본 발명에 있어서, 상기 균주는 신생아의 분변에서 분리된 것일 수 있다.

[0030] 본 발명에 있어서, 상기 균주는 항균 활성을 가지는 것일 수 있다.

[0031] 본 발명에 있어서, 상기 균주는 다제내성균주에 대한 항균 활성을 가지는 것일 수 있고, 상기 다제내성균주는 메티실린 내성 황색포도상구균(MRSA), 메티실린 감수성 황색포도상구균(MSSA), 반코마이신 내성 황색포도상구균(VRSA), 반코마이신 중등도내성 황색포도상구균(VISA), 반코마이신 내성 장구균(VRE), 반코마이신 감수성 장구균(VSE), 다제내성 녹농균(MRPA), 카바페넴 내성 녹농균(CRPA), 카바페넴 내성 아시네토박터바우마니균(CRAB) 및 카바페넴 내성 장내세균속균종(CRE)으로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있다.

[0032] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.

[0033] 상기 용어, "항균" 또는 "항균 활성"은 세균이나 곰팡이와 같은 미생물에 대해 저항하는 성질을 의미하며, 보다 상세하게는 세균의 성장 또는 증식을 억제하거나 세균 자체를 사멸시키는 특성을 의미한다. 본 발명에서, 상기 항균 또는 항균 활성은 살모넬라 속 균주의 성장 또는 증식을 억제하거나 사멸시키는 특성으로서 사용될 수 있다.

[0034] 본 발명의 용어, "항균용 조성물"은 세균과 같은 미생물의 생육을 저해하는 활성을 가진 조성물로서, 항미생물제를 총칭하는 의미인 항생제와 같은 의미일 수 있고, 항균 효과가 요구되는 다양한 분야에 사용되는 모든 형태가 포함될 수 있다.

[0035] 본 발명의 항균용 조성물은 상기 균주 또는 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액 그 자체일 수 있고, 제형화에 필요한 부형제나 희석제 등의 통상적으로 사용되는 첨가제가 더 포함될 수 있으며, 본 발명의 균주 또는 이의 배양물 이외의 다른 항균 물질을 더 포함할 수도 있다. 유효성분의 혼합양은 그의 사용 목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[0036] 상기 항균용 조성물에 포함되는 본 발명의 균주 또는 상기 균주의 배양물 또는 상기 균주의 배양액의 농축액의 함량은 사용목적 및 사용방법 등을 고려하여 적절하게 선택될 수 있으며, 예를 들어 전체 조성물을 기준으로 1 ~ 100중량%, 바람직하게는 10 ~ 100중량%, 더욱 바람직하게는 50 ~ 100중량%일 수 있다.

[0037] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 프로바이오틱스 제제를 제공한다.

[0038] 본 발명의 용어, "프로바이오틱스"는 살아 있는 균 즉, 사람이나 동물이 섭취했을 때 위장관에 머물러 생존할 수 있는 미생물로서 특정 병리 상태를 예방하거나 치료할 수 있는 효과가 있는 미생물 제제를 말한다. 일반적으로 프로바이오틱스는 장내 세균 총의 이상 발효에 의하여 야기되는 제반 증상을 치료하고 개선하는 효과가 있으며 사람 및 동물에 투여되면 장내의 소화관 벽에 밀집, 정착하여 유해 미생물이 정착하지 못하게 하는 작용을 하며 유산을 생성하여 장내 pH를 낮추어서 유해 미생물의 증식을 억제한다.

[0039] 본 발명의 상기 프로바이오틱스 제제에서, 상기 균주 배양액에는 균주가 생산해 낸 여러 항균성 유기산 및 비단백질성 항균 물질들이 포함되어 있어 생균제 조성물의 유효성분으로 포함되었을 때 균주를 포함한 조성물과 동등한 효과를 나타낼 수 있다.

[0040] 또한, 본 발명의 상기 프로바이오틱스 제제는 상기 락토바실러스 속 유산균과 함께 섭취하기에 적합하고, 섭취

시 유해 미생물의 생육을 억제하며, 장내 균총의 균형을 개선시키는 활성을 가지는 다른 종류의 공지된 미생물을 추가로 포함할 수 있다.

[0041] 본 발명의 상기 프로바이오틱스 제제는 당업계에 공지된 방법에 따라 다양한 제형과 방법으로 제조 및 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물은 약제학적 분야에서 통상적으로 사용되는 담체와 혼합하여 산제(powder), 액제(liquids and solutions), 정제(tablet), 캡슐(capsule), 시럽(syrup), 현탁제(suspension) 또는 과립제(granule) 등의 형태로 제조되어 투여될 수 있다. 상기 담체로는 예를 들어, 결합제, 활탁제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소 및 향료 등일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 투여 용량은 체내에서의 활성 성분의 흡수도, 불활성물, 배설 속도, 피투여자의 연령, 성별, 축종, 상태 및 질병의 중증 정도 등에 따라 적절히 선택할 수 있다.

[0042] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 항비만용 조성물을 제공한다.

[0043] 본 발명에 있어서, 상기 "비만"이란 체내에 지방 또는 지방세포가 과다하게 축적된 상태를 의미하며, 상기 "항비만"이란 "비만" 상태를 개선하거나 예방하는 것을 의미한다.

[0044] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 다제내성균 감염 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0045] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 다제내성균 감염 질환은 메티실린 내성 황색포도상구균(MRSA), 메티실린 감수성 황색포도상구균(MSSA), 반코마이신 내성 황색포도상구균(VRSA), 반코마이신 중등도내성 황색포도상구균(VISA), 반코마이신 내성 장구균(VRE), 반코마이신 감수성 장구균(VSE), 다제내성 녹농균(MRPA), 카바페넴 내성 녹농균(CRPA), 카바페넴 내성 아시네토박터바우마니균(CRAB) 및 카바페넴 내성 장내세균속균종(CRE)으로 이루어진 군에서 선택되는 다제내성균주에 의한 감염 질환인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0046] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용가능한"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다. 상기 담체는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제, 기제, 부형제, 윤활제 등 당업계에 공지된 것이라면 제한없이 사용할 수 있다.

[0047] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 나아가, 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 산제, 현탁제, 젼제 또는 젼의 형태의 피부 외용제의 형태로 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젼라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0048] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 싸이코트리아 루브라 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젼라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제에는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0049] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명의 용어 "투여"란 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여될 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.

- [0050] 상기 용어, "개체"란 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미한다. 바람직하게는, 인간을 포함한 포유동물일 수 있다.
- [0051] 상기 용어, "약학적으로 유효한 양"이란 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 성별, 연령, 체중, 건강 상태, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로, 및 배출 비율, 치료 기간, 배합 또는 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 투여는 상기 권장 투여량을 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.
- [0052] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 식품 첨가제 조성물을 제공한다.
- [0053] 상기 식품 첨가제로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한 식품의약품 안전처에 승인된 식품첨가물공전의 총칙 및 일반 시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [0054] 상기 "식품첨가물공전"에 수재된 품목으로 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산 칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성품, 감색소, 감조추출물, 결정셀룰로오스, 고령색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 먼류 첨가 알칼리제, 보존료제제, 타르색소 제제 등의 혼합 제제류 등을 들 수 있다.
- [0055] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 가세리 HL20 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 이의 건조물을 유효성분으로 포함하는 사료 첨가제 조성물을 제공한다.
- [0056] 상기 사료 첨가제는 항균 활성을 가지고 있어, 가금류 또는 가축 등에게 꾸준히 섭취하게 함으로써 세균성 질환을 예방할 수 있고, 이미 발생한 세균성 질환을 개선시킬 수 있다. 사료는 영양가, 주성분, 유통, 수분 함량 배합상태 및 가공형태 등에 따라 여러 가지로 분류할 수 있으며, 사료는 조사료, 농후사료, 보충사료, 단백질사료, 녹말사료, 지방질사료 또는 섬유질사료가 사용가능하다.
- [0057] 상기 사료 첨가제는 추가적으로 허용되는 담체를 함유할 수 있으며, 예를 들어, 상기 사료 첨가제를 그대로 또는 공지의 담체, 안정제 등을 가할 수 있다. 또한, 필요에 따라 비타민, 아미노산류, 미네랄 등의 각종 양분, 향산화제, 향생물질, 항균제 및 기타의 첨가제 등을 가할 수도 있으며, 그 형상으로는 분체, 과립, 펠릿, 현탁액 등의 적당한 상태일 수 있다. 본 발명의 사료첨가제는 단독으로 또는 사료에 혼합하여 공급할 수 있다.
- [0059] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0061] 실시예 1. 균주의 분리 및 동정

- [0062] 본 발명에서는 신생아(neonate)의 분변으로부터 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속에 속하는 균주들을 분리하고, MALDI-TOF MS(Matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry)를 이용한 Biotyper(bruker)를 이용하여 균주들을 동정하였다. 16S rRNA 서열분석(도 1) 및 전체 게놈 서열분석(whole genome sequencing)을 통해 균주의 유전적 정보를 확인하였고, 새로운 균주의 게놈 서열을 NCBI에 등록하였다(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/1023?genome_assembly_id=1585433).
- [0063] 본 발명의 새로운 균주는 락토바실러스 가세리 HL20(*Lactobacillus gasseri* HL20)으로 명명하였고, 한국생명공학연구원 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures)에 2022년 03월 17일자로 기탁하였고, 수탁번호 KCTC 14907BP를 부여받았다.

[0065] 실시예 2. 항균 활성 효과

- [0066] 신생아의 분변에서 분리된 여러 락토바실러스(*Lactobacillus*) 균주들의 메티실린 내성 황색포도상구균(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)에 대한 저해능을 확인하는 실험을 수행하였다. 간단히, 혐기성 환경에서 24-well 크기의 Transwell을 이용하여 MRSA 균주(WKZ-2 균주 및 LAC 균주)와 각 락토바실러스(*Lactobacillus*) 균주가 막을 기준으로 분리된 상태에서 공배양하였고, 600 nm 파장에서 O.D.(optical

density) 값을 측정하였다. 저해율은 다음 수식으로 계산하였다: $\{(MRSA \text{ 단독배양 O.D.} - \text{락토바실러스 공배양 시 MRSA의 O.D.}) / MRSA \text{ 단독배양 O.D.} \times 100\}$.

[0067] 그 결과, 락토바실러스 가세리 HL20 및 락토바실러스 가세리 70이 가장 높은 MRSA 저해율을 보였다 (도 2).

[0068] 이후, 상기 두 균주를 100 mm 크기의 Transwell에서 다시 MRSA에 대한 저해율을 측정하였다. 그 결과, 락토바실러스 가세리 HL20은 락토바실러스 가세리 70보다 MRSA에 대한 저해능이 더 높은 것을 확인하였다 (도 3).

[0070] 실시예 3. 항비만 효과

[0071] 락토바실러스 가세리 HL20의 항비만 효과를 확인하기 위해, 지방전구세포(pre-adipocyte)인 3T3-L1 세포에 락토바실러스 가세리 HL20 및 2종의 락토바실러스 균주의 배양 상등액을 10% (v/v) 처리한 후 MTT assay를 통한 세포독성을 확인하고, oil red O 염색법을 사용하여 지방을 염색하여 항비만 효과를 비교하였다.

[0072] 그 결과, 락토바실러스 가세리 HL20은 약 63.8%로 지방생성을 억제하는 효과가 있음을 확인하였다 (도 4).

수탁번호

[0075]

기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC14907BP

수탁일자 : 20220317

도면

도면1

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : HC00202913
Sample name : 20_contig_1

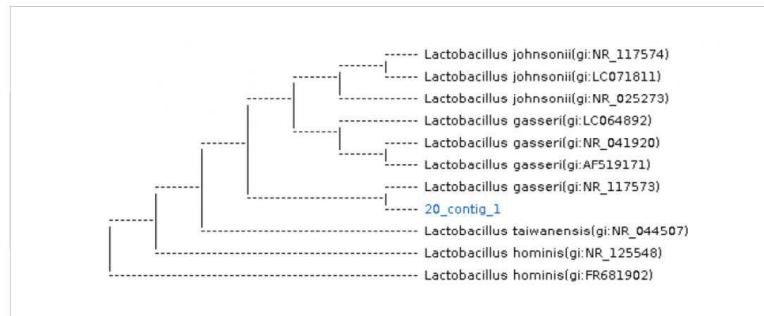
Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject						Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct.(%)
NR_041920.1	Lactobacillus gasseri	1572	23	1524	95	2756	0.0	1499/1502	99

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Lactobacillaceae	Lactobacillus	Lactobacillus gasseri

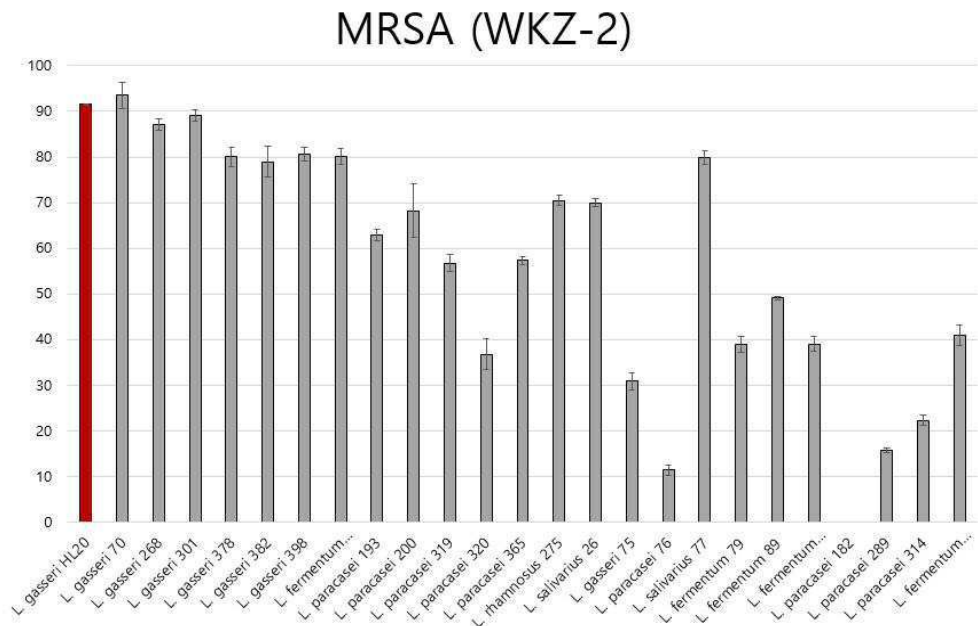


Characterization

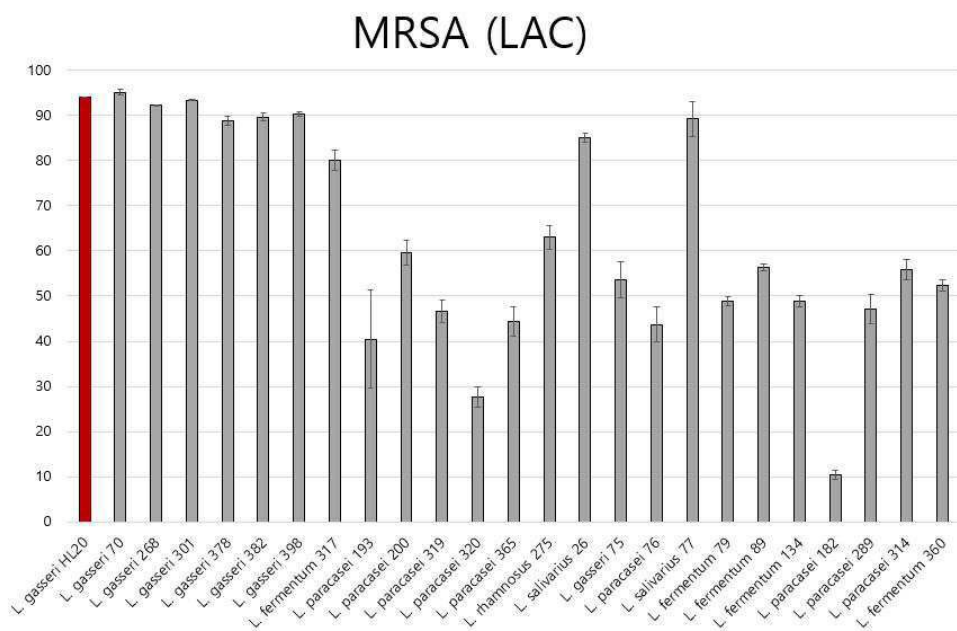
Lactobacillus species are members of the Lactobacillaceae family. They are gram positive rods or coccobacilli and occasionally form short chains. Lactobacilli are part of the normal flora of the human mouth, gastrointestinal tract and female genital tract and are generally regarded as safe for use in food (probiotics and to ferment food). Lactobacillus infections are rare.

Like the other members of the Lactobacillus genus, Lactobacillus gasseri is an anaerobic, gram-positive bacterium that falls into the category of lactic acid bacteria. It is also a rod shaped and of the non-spore-forming type. It is typically found in the gastrointestinal tracts of humans and animals due to its largely fermentative function. Although mainly in

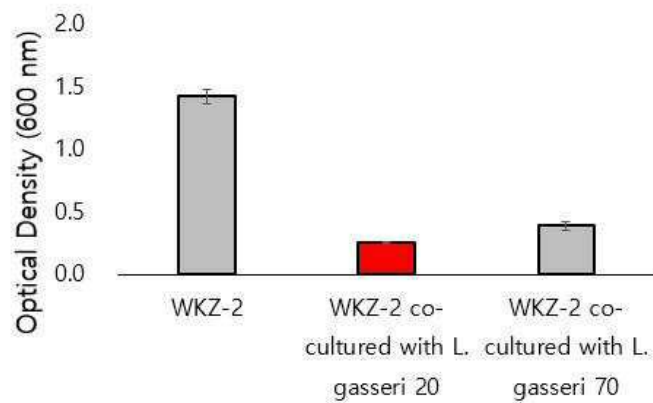
도면2a



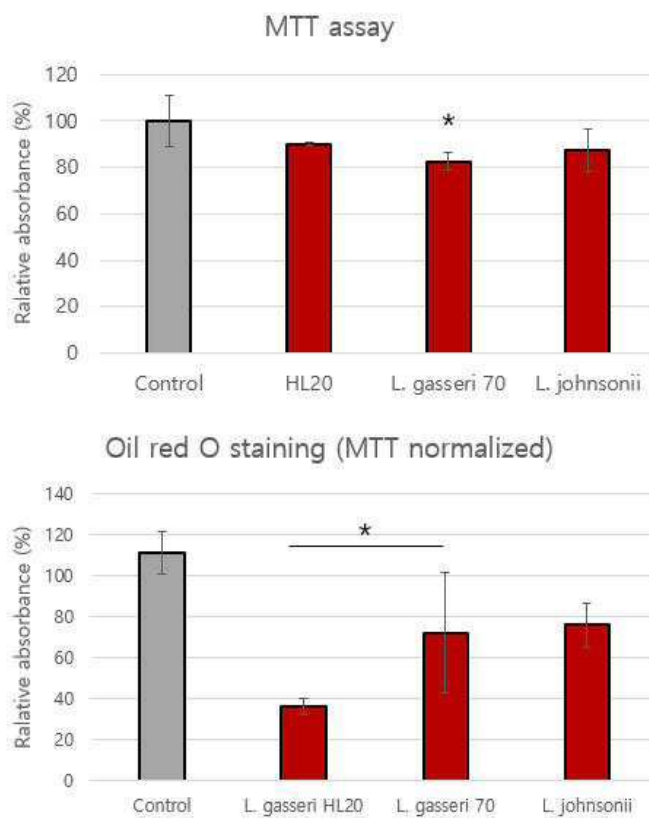
도면2b



도면3



도면4



서열 목록

- <110> Foundation of Soongsil University-Industry Cooperation
Industry Academic Cooperation Foundation, Hallym University
- <120> Lactobacillus gasseri HL20 strain and uses thereof
- <130> 1070858
- <160> 1
- <170> KoPatentIn 3.0

<210> 1
 <211> 1573
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Lactobacillus gasseri HL20_16S rRNA
 <400> 1

gaaaatgaga gtttgatcct ggctcaggac gaacgctggc ggctgccta atacatgcaa 60
 gtcgagcgag cttgcctaga tgaatttggg gcttgacca aatgaaacta gatacaagcg 120

agcggcggac gggtagagta cacgtgggta acctgcccaa gagactggga taacacctgg 180
 aaacagatgc taataccgga taacaacact agacgcatgt ctagagttaa aaagatgggt 240
 ctgctatcac tcttgatggg acctgcgggtg cattagctag ttggttaagg aacggcttac 300
 caaggcaatg atgcatagcc gaggtagag actgatcggc cacattggga ctgagacacg 360
 gccccaaact ctacgggagg cagcagtagg gaattctcca caatggacgc aagtctgatg 420
 gagcaacgcc gcgtgagtga agaagggttt cggctcgtaa agctctgttg gtagtgaaga 480
 aagatagagg tagtaactgg cttttatttg acggttaatta cttagaaagt cacggctaac 540

tacgtgccag cagccgcggt aatacgtagg tggcaagcgt tgtccggatt tattgggcgt 600
 aaagcgagtg caggcgggtc aataagtcgt atgtgaaagc ctttggctca accggagaat 660
 tgcatacaga actgttgaa ttgagtgacg aagaggagag tggaaactcca tgtgtagcgg 720
 tggaatgcgt agatataatg aagaacacca gtggcgaagg cggtctcttg gctgtcaact 780
 gacgtgagg ctgaaagca tgggtagcga acaggattag atacctggt agtccatgcc 840
 gtaaacgatg agtgctaagt gttgggaggt ttccgcctct cagtgtgca gctaacgcat 900
 taagcactcc gcctggggag tacgaccgca aggttgaaac tcaaaggaat tgacggggggc 960

ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgaagcaac gcgaagaacc ttaccaggtc 1020
 ttgacatcca gtgcaaacct aagagattag gtgttcctt cggggacgct gagacaggtg 1080
 gtgcatggct gtcgtcagct cgtgtcgtga gatgttgggt taagtccgc aacgagcgca 1140
 acccttgta ttagttgcca tcattaagt gggcactcta atgagactgc cggtgacaaa 1200
 ccggaggaag gtgggatga cgtcaagtca tcatgcccct tatgacctgg gctacacacg 1260
 tgctacaatg gacggtacaa cgagaagcga acctgcgaag gcaagcggat ctctgaaagc 1320
 cgttctcagt tcggactgta ggctgcaact cgcctacacg aagctggaat cgctagtaat 1380

cgcggatcag cagccgcggg tgaatacgtt cccgggcctt gtacacaccg cccgtcacac 1440
 catgagagtc tgtaacaccc aaagccggtg ggataacctt tataggagtc agccgtctaa 1500

ggtaggacag atgattaggg tgaagtcgta acaaggtagc cgtaggagaa cctgcggctg	1560
gatcacctcc ttt	1573